

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-081026

(43)Date of publication of application : 27.03.2001

(51)Int.Cl.

A61K 31/201
A23K 1/16
A23L 1/30
A61P 1/00
C07C 57/12

(21)Application number : 11-257929

(71)Applicant : NATL INST OF HEALTH & NUTRITION
MINISTRY OF HEALTH & WELFARE
RINORU OIL MILLS CO LTD

(22)Date of filing : 10.09.1999

(72)Inventor : KASAOKA NOBUYO
TAKAHASHI MAYUMI
EZAKI OSAMU
OKUYAMA HITOSHI
KASAI MASAOKI
IWATA TOSHIO**(54) UNCOUPLING PROTEIN EXPRESSION ACCELERATOR CONTAINING CONJUGATED LINOLEIC ACID AS ACTIVE INGREDIENT****(57)Abstract:**

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject medicine having an action specifically accelerating the expression of an uncoupling protein(UCP) having effect which consumes excessive energy to generate heat and thereby prevents obesity by adding a conjugated linoleic acid as an active ingredient.

SOLUTION: This medicine contains a conjugated linoleic acid.. Examples of the conjugated linoleic acid include 9,11octadecadienoic acid, 10,12- octadecadienoic acid and their mixtures, and 10t,12c-octadecadienoic acid is especially preferable. Further, an example of the form of the conjugated linoleic acid is a fatty acid, a mono-, di- or tri-glyceride, a sodium salt, a potassium salt, a calcium salt, a phospholipid, a lysophospholipid or their mixture, and a fatty acid, a triglyceride, a phospholipid or a calcium salt is especially preferable.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 02.11.1999

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 08.04.2003

[Kind of final disposal of application other than the
examiner's decision of rejection or application
converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of
rejection] 2003-08166[Date of requesting appeal against examiner's decision
of rejection] 08.05.2003

[Date of extinction of right]

2001-81026

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-81026

(P2001-81026A)

(43) 公開日 平成13年3月27日 (2001.3.27)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード* (参考)
A 6 1 K 31/201		A 6 1 K 31/201	2 B 1 5 0
A 2 3 K 1/16	3 0 1	A 2 3 K 1/16	3 0 1 F 4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	Z 4 C 2 0 6
A 6 1 P 1/00	1 7 1	A 6 1 P 1/00	1 7 1 4 H 0 0 6
C 0 7 C 57/12		C 0 7 C 57/12	
審査請求 有 請求項の数 7 O L (全 6 頁)			

(21) 出願番号 特願平11-257929

(22) 出願日 平成11年9月10日 (1999.9.10)

(71) 出願人 599128734

厚生省国立健康・栄養研究所長

東京都新宿区戸山1丁目23番1号

(71) 出願人 591184437

リノール油脂株式会社

東京都中央区日本橋2丁目13番12号

(72) 発明者 笠 岡 宜 代

東京都新宿区戸山1丁目23番1号

(72) 発明者 高 橋 真由美

東京都新宿区戸山1丁目23番1号

(74) 代理人 100064285

弁理士 佐藤 一雄 (外3名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 共役リノール酸を有効成分とする脱共役蛋白質発現亢進剤

(57) 【要約】

【課題】 肥満防止に有効な、脱共役蛋白質発現亢進剤を提供する。

【解決手段】 共役リノール酸を有効成分とする脱共役蛋白質発現亢進剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】共役リノール酸を有効成分とする脱共役蛋白質発現亢進剤。

【請求項2】共役リノール酸が、9, 11-オクタデカジエン酸、10, 12-オクタデカジエン酸およびこれらの混合物から選択される、請求項1に記載の脱共役蛋白質発現亢進剤。

【請求項3】共役リノール酸が、脂肪酸、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、トリグリセリド、ジグリセリド、モノグリセリド、リン脂質またはこれらの混合物の形態である、請求項1または2に記載の脱共役蛋白質発現亢進剤。

【請求項4】請求項1～3のいずれか一項に記載の共役リノール酸を含有して成る、脱共役蛋白質発現亢進作用を有する食品または飼料。

【請求項5】共役リノール酸を含有する油脂製品の形態である、請求項4に記載の食品または飼料。

【請求項6】前記油脂製品が、サフラワー油をアルカリ共役化反応に付すことにより得られたものである、請求項5に記載の食品または飼料。

【請求項7】ペットフードとして用いられる、請求項4～6のいずれか一項に記載の食品または飼料。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は共役リノール酸を有効成分とする脱共役蛋白質発現亢進剤に関する。更に詳しくは、本発明は、余剰エネルギーを消費し、熱産生することによって、肥満を防ぐ働きを持つ脱共役蛋白質（uncoupling protein、以後UCPと略す。）の発現を特異的に亢進させる作用を有する、共役リノール酸を有効成分とする脱共役蛋白質発現亢進剤、および医薬並びに食品分野におけるその使用に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、我が国においても肥満患者が増大し、大きな社会問題になりつつある。食物摂取の増大（過食）、運動の減少（運動不足）、体熱発生の変動等の要因によって肥満になると、体脂肪が多く蓄積することによって動脈硬化、高血圧症、糖尿病、心臓病を引き起こし、血管障害、神経障害、抵抗力低下等の合併症を併発することがある。成人病の予防等の観点から、肥満を解消する手段について多方面から研究が行われており、肥満と脂肪組織とのかわかりが注目されてきている。最近になって、脂肪蓄積に関連する生体内脂肪代謝も分子レベルで解明されつつある。

【0003】脂肪は脂肪組織に貯められるが、この組織にはまったく働きの違う2種類の白色脂肪組織と褐色脂肪組織がある。脂肪組織の殆どは白色脂肪組織で、余剰のエネルギーを中性脂肪の形で蓄積し、必要なとき脂肪酸として全身に再供給する役目を有しているが、褐色脂肪組織は体熱産生機能が高度に発達した組織であり、余

剰のエネルギーを消費する逆の働きを有している。また、褐色脂肪組織は食物を摂取した際の食事誘発性体熱産生にも関与し、その機能の低下が肥満症と関連する可能性が高いことが明らかになってきた。

【0004】エネルギー代謝調節系は、摂食調節系とエネルギー消費調節系より成り、これらを介して、生体の体重、体脂肪量、糖脂質代謝等を調節する。レプチンが発見されて以来、摂食調節系の研究は急速に進展しており、現在レプチン以降の経路についても研究が進んでいる。エネルギー消費調節系については未解決であったが、その中心的役割を担うUCPの遺伝子を人為的に改変し、肥満との関連を調べる試みが行われ始めた。最近では、UCPには褐色脂肪組織に特異的に存在するUCP1の他に、UCP1と同一性が高く、同様の機能を有すると考えられる蛋白質サブタイプ、UCP2及びUCP3が相次いで発見され、白色脂肪組織等多くの組織に広く分布するUCP2、主として骨格筋に存在するUCP3が明らかになり、肥満研究はますます過熱しつつある。そこで、UCPを特異的に亢進する物質を探索することが重要な課題となっている。

【0005】特開平10-231493号には、ヒトを含む哺乳動物の褐色脂肪細胞等の熱産生組織の脱共役呼吸（プロトンリーク）を特異的に亢進する物質として、高度不飽和油脂、例えば魚油、アマニ油及びソシ油の植物油脂から選ばれる物質が記載されているが、共役リノール酸（CLA）については何ら言及されていない。また、Tsuboyama-Kasaokaらの報告（Biochemical and Biophysical Research Communications, 257, 879-885, 1999）によれば、魚油によって褐色脂肪組織におけるUCP2 mRNAの発現量が高くなっていることを確認しているが、白色脂肪組織では高くならず対照群と同程度であったことから、褐色脂肪組織におけるUCPが亢進すれば白色脂肪組織でもUCPが亢進するとは限らず、運動性があるとは考えられない。

【0006】一方、共役リノール酸は油で揚げた肉から単離され（Y.L.Haら、Carcinogenesis, 8,1881-1887,1987）、その種々の作用について下記のような報告がこれまでになされている。①抗発癌性物質（Cancer Research, 51,6118-6124,1991）、②動物の食餌効率を高める方法（特許公報第2745245号）、③食品の保存方法及びそのための保存剤（特許公報第1935402号）、④免疫刺激による体重ロス、体重増加の低下、食欲欠乏を予防する方法（米国特許5,430,066号）、⑤体脂肪を低下させる方法（米国特許6,554,646号）、⑥骨ミネラル含量を維持及び増加する方法（米国特許5,804,210号）、⑦アポ蛋白Bの分泌を低減する方法（米国特許5,837,733号）。しかしながら、本発明者らの知る限り、共役リノール酸がUCPを特異的に亢進させ、抗肥満作用を有する旨の報告は未だなされていない。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、余剰エネルギーを消費し、熱産生することによって肥満を防ぐ働きを持つ脱共役蛋白質（UCP）の発現を特異的に亢進させる作用を有する新規の医薬品、食品および飼料を提供することを目的とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、肥満の予防および治療に有効となる指標をUCP発現量とし、鋭意研究を重ねた結果、共役リノール酸が高いUCP発現亢進作用を有することを見出し、本発明を完成するに至った。即ち、本発明は、共役リノール酸を有効成分とする脱共役蛋白質発現亢進剤（医薬品、食品、飼料）を提供するものである。

【0009】

【発明の実施の形態】本発明で使用される共役リノール酸（CLA）としては、9, 11-オクタデカジエン酸、10, 12-オクタデカジエン酸およびこれらの混合物が挙げられ、中でも10t, 12c-オクタデカジエン酸が好ましい。また、共役リノール酸の形態は、脂肪酸、モノ-、ジ-またはトリグリセリド、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、リン脂質、リゾリン脂質およびこれらの混合物が挙げられ、中でも脂肪酸、トリグリセリド、リン脂質、カルシウム塩が好ましい。更に、共役リノール酸の誘導体、例えばアスコルビン酸誘導体、マイトマイシンC誘導体、等も使用することができる。

【0010】本発明による「共役リノール酸を有効成分とする脱共役蛋白質発現亢進剤」は、医薬品のみならず、抗肥満食品として用いることができる。抗肥満食品の具体的な態様の一例として、リノール酸含有油脂（例えばサフラワー油）をアルカリ共役化反応に付すことにより油脂中のリノール酸を共役リノール酸に転化させて得られる、共役リノール酸含有油脂製品を挙げることができる。「アルカリ共役化反応」は、アルカリ-有機溶媒溶液中にて脂肪酸を異性化して共役脂肪酸に転化する反応であり、アルカリとして水酸化カリウム、有機溶媒としてエチレングリコールを代表的に使用する方法が知られている（J. Am. Oil Chem. Soc., 36, 631, (1959)、第34回油化学討論会講演要旨集p171（1995）、基準油脂分析試験法2. 4. 16-17）。また、本発明者らは、有機溶媒としてプロピレングリコールを使用する、転化率の向上した共役リノール酸の製造法を先に提案している（特願平8-288094号明細書）。原料*

* 油脂がサフラワー油の場合、このようなアルカリ共役化法により得られる共役リノール酸含有油脂中のCLA含量は、一般的に10~100%、好ましくは50~90%であり、残りの成分はパルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、未共役リノール酸、等である。

【0011】本発明の「共役リノール酸を有効成分とする脱共役蛋白質発現亢進剤」を医薬品として使用する場合、共役リノール酸を他の成分、例えば薬用希釈剤（ラクトース、デンプン、デキストリン、アラビアガム等）と組み合わせることができ、錠剤、カプセル若しくは液体の形態で使用することができる。本発明による脱共役蛋白質発現亢進剤を上述のような食品、医薬、飼料、ペットフードの何れで用いる場合でも、それにより摂取されるべき共役リノール酸は食事重量の一般に0. 01~3. 0%、好ましくは0. 05~2. 0%である。

【0012】以下の実験例は、共役リノール酸が脱共役蛋白質の発現を特異的に亢進させ、抗肥満作用を有することを示すものである。

実施例1

7週齢のC57BL/6雌マウスを予備飼育した後、CLA無添加群（対照群）および1. 5%のCLA群の計2群（各群9匹）に分け、表1に示す実験食と水を自由に与えた。使用したCLAの組成は表2に示されるように、9c, 11t/9t, 11c-18: 2および10t, 12c-18: 2の2つが主なものであった。19週間飼育後、各群9匹のマウスについて屠殺し、白色脂肪組織（子宮周囲脂肪組織）を摘出した。

【0013】その結果、表-3に示されるように、体重増加量は群間に有意な差はなかったが、CLA添加群において対照群よりも白色脂肪組織重量は減少した。エネルギー消費/熱産生に関与するタンパク質である脱共役蛋白質（UCP）のmRNA発現量を白色脂肪組織において測定した結果、表-4に示されるように、CLA添加群で対照群よりも白色脂肪組織中のUCP2のmRNAが約5倍程増加した。更に、白色脂肪における腫瘍壊死因子（Tumor Necrosis Factor- α 、TNF- α ）のmRNA発現量を測定した結果（表-5）、CLAによって有意に増加しており、CLAはTNF- α を介してUCP2の発現量を亢進していると考えられる。以上のことから、マウスにCLAを給餌させると、マウスの体重増加量に影響することなく、腫瘍壊死因子を介して脱共役蛋白質の発現量が増加することによって、白色脂肪組織が減少することが分かった。

【0014】

表-1 飼料組成 (AIN-93G)

成 分	実 験 群	
	対 照 群	C L A
	(g/100g)	
カゼイン	23. 7	23. 7

(4)

特開2001-81026

5

6

α-スターチ	50.0	50.0
スクロース	10.0	10.0
ミネラル混合 (AIN-93G)	7.0	7.0
ビタミン混合 (AIN-93G)	1.0	1.0
DL-メチオニン	0.35	0.35
セルロース	4.0	4.0
LA (サフラワー油)	4.0	2.5
CLA	-	1.5

【0015】

10

表-2 CLAおよびサフラワー油の脂肪酸組成

	C L A	サフラワー油
C16:0 (パルミチン酸)	6.9	6.7
C18:0 (ステアリン酸)	2.4	2.4
C18:1 (オレイン酸)	15.3	15.1
C18:2 (リノール酸)	0.7	74.1
CLA (共役リノール酸)	74.1	n. d.
c9,t11/t9,c11-18:2	(34.1)	-
t10,c12-18:2	(35.9)	-
c9,c11/c10,c12-18:2	(2.5)	-
t9,t11/t10,t12-18:2	(1.6)	-
C18:3 (α-リノレン酸)	-	0.5
その他	0.6	1.2

【0016】

表-3 ラットの体重および脂肪組織重量

パラメーター	実 験 群	
	対 照 群	C L A
初期体重 (g)	18.6	18.8
最終体重 (g)	22.8	22.9
白色脂肪重量 (g) (子宮周囲脂肪組織重量)	0.5	0.2

【0017】

表-4 白色脂肪組織中の膵共役蛋白質2 (UCP2) のmRNA発現量

パラメーター	実 験 群	
	対 照 群	C L A
UCP2 mRNA (%)	100	482

表-5 白色脂肪組織中の腫瘍壊死因子 (TNF-α) のmRNA発現量

パラメーター	実 験 群	
	対 照 群	C L A
TNFα mRNA (%)	100	831

【0018】実施例2

A添加4週間までの経時的変化を観察した。7週齢のC
更に、CLA添加の短期的な影響を確認するためにCL 50 57BL/6雌マウスを予備飼育した後、CLA無添加

群（対照群）および1.5%CLA群の計2群（各群4～6匹）に分け、実験例1と同様に実験食と水を自由に与えた。使用したCLAの組成も実験例1の表2に示されるように、9c, 11t/9t, 11c-18:2および10t, 12c-18:2の2つが主なものであった。投与前、実験食開始1日目、4日目、7日目、14日目、28日目の計6回、各群のマウスについて屠殺し、各脂肪組織を摘出した。

【0019】その結果、図-1に示されるように、4種類の白色脂肪組織重量はCLA投与後4日目で低下し始め、それ以降は対照群よりも低値のまま維持し続けた。*

*また、図-2に示されるように、UCP2のmRNA発現量は、白色脂肪組織及び褐色脂肪組織においてCLA投与後直ぐに増加し、実験食開始4週間まで高値のままであった。以上のことから、ラットにCLAを給餌させると、脱共役蛋白質の発現量が増加し、白色脂肪組織が減少することが分かった。

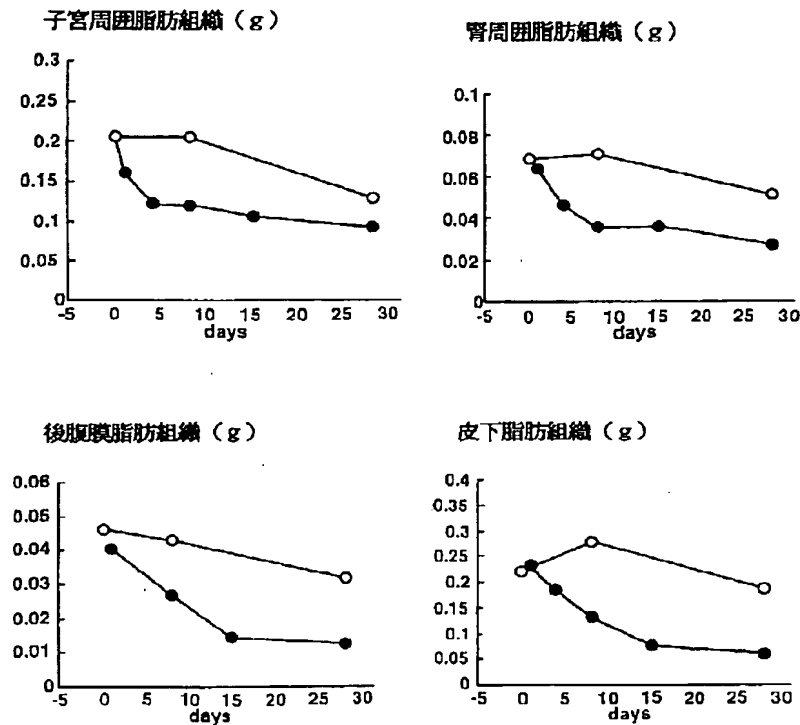
【図面の簡単な説明】

【図1】各脂肪組織重量に及ぼすCLAの影響を示す図である。

【図2】各脂肪組織におけるUCP2 mRNA発現量に及ぼすCLAの影響を示す図である。

【図1】

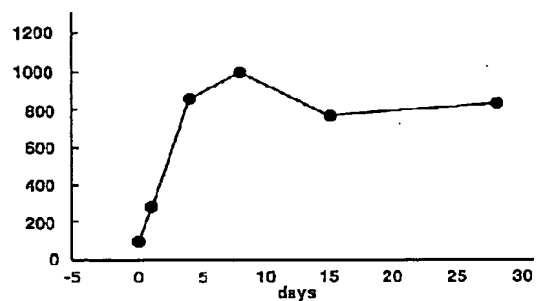
図-1 各脂肪組織重量に及ぼすCLAの影響（●：CLA添加群 ○：対照群）



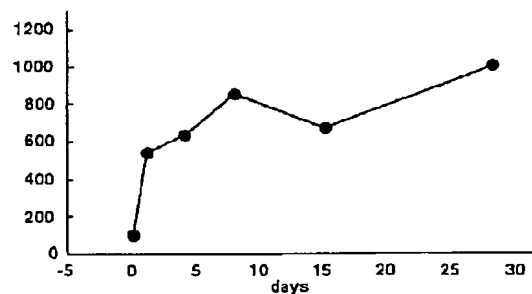
【図2】

図-2 各脂肪組織におけるUCP2 mRNA発現量に及ぼすCLAの影響

白色脂肪組織におけるUCP2 mRNA発現量 (%)



褐色脂肪組織におけるUCP2 mRNA発現量 (%)



フロントページの続き

(72)発明者 江▲崎▼ 治

東京都新宿区戸山1丁目23番1号

(72)発明者 奥 山 齊

東京都中央区日本橋3丁目15番8号 リノール油脂株式会社内

(72)発明者 笠 井 正 章

愛知県名古屋市港区潮見町37-15 リノール油脂株式会社名古屋工場内

(72)発明者 岩 田 敏 夫

東京都中央区日本橋3丁目15番8号 リノール油脂株式会社内

Fターム(参考) 2B150 AB20 DA37

4B018 MD10 MD14 ME01 MF11

4C206 AA01 AA02 DA04 KA12 MA01

MA02 MA04 ZC21 ZC41

4H006 AA03 AB10 BS10